

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-036347

(43)Date of publication of application : 10.02.1998

(51)Int.Cl.

C07D209/12
A61K 31/40
A61K 31/535
C07D209/10

(21)Application number : 09-101557

(71)Applicant : AMERICAN HOME PROD CORP

(22)Date of filing : 18.04.1997

(72)Inventor : MILLER CHRIS PAUL
COLLINI MICHAEL DAVID
TRAN BACH DINH

(30)Priority

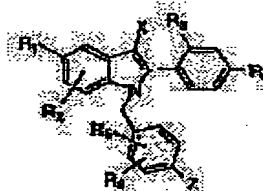
Priority number : 96 633972
96 633976Priority date : 19.04.1996
19.04.1996Priority country : US
US

(54) ESTROGENLIKE AGENT

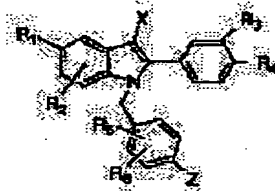
(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To prepare a new compound which is an estrogen agonist/antagonist useful for treating diseases related to estrogen deficiency.

SOLUTION: This new compound is reproduced by formula I or II [R1 is H, OH, a 1-4C ester, etc.; R2 to R6 are each H, OH, a 1-6C alkyl, etc., with the proviso that R2 is not OH when R1 is H; X is H, a 1-6C alkyl, etc.; Z is represented by formula III [Y is represented by formula IV (R7 and R8 are each H, a 1-6C alkyl, etc.)], etc.], e.g. 5-benzyloxy-2-(4-fluoro-phenyl)-3-methyl-1H-indole. The compound represented by formula I is prepared by heating a suitably substituted aniline with a suitably substituted α -bromophenylpropiophenone and then alkylating the resultant product with 4-bromobenzyl bromide.



I



II



III



IV

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

06.01.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-36347

(43) 公開日 平成10年(1998) 2月10日

(51) IntCl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 209/12			C 0 7 D 209/12	
A 6 1 K 31/40	A E K		A 6 1 K 31/40	A E K
31/535			31/535	
C 0 7 D 209/10			C 0 7 D 209/10	

審査請求 未請求 請求項の数24 O L (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願平9-101557	(71) 出願人	591011502 アメリカン・ホーム・プロダクツ・コーポ レイション AMERICAN HOME PRODU CTS CORPORATION アメリカ合衆国07940-0874 ニュージャ ージー州マディソン、ファイブ・ジラル ダ・ファームズ (番地の表示なし)
(22) 出願日	平成9年(1997) 4月18日	(72) 発明者	クリス・ボール・ミラー アメリカ合衆国19087ペンシルベニア州ス トラフォード、メドウブルック・ロード72 番
(31) 優先権主張番号	08/633972	(74) 代理人	弁理士 青山 葆 (外1名)
(32) 優先日	1996年4月19日		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	08/633976		
(32) 優先日	1996年4月19日		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 エストロゲン様薬剤

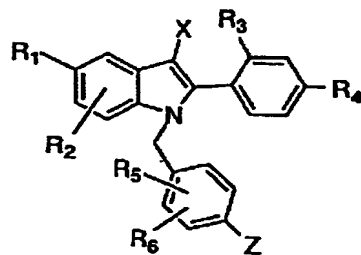
(57) 【要約】

【課題】 エストロゲン様薬剤として有用な新規化合物、ならびに、これらの化合物を利用した医薬組成物お

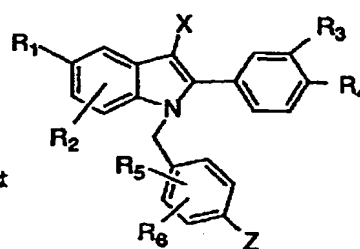
よび治療法を提供すること。

【解決手段】 式：

【化1】

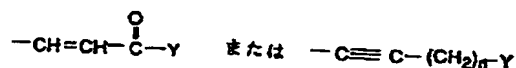


または



【式中、 $R_1 \sim R_6$ は、独立して、H、OHまたはそのエステルもしくはアルキルエーテル、あるいはハロゲンなど（ただし、 R_1 がHのとき、 R_2 はOHではない）；Xは、H、アルキル、シアノ、ニトロ、ハロゲンなど；Zは、

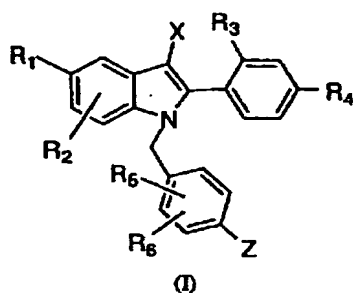
【化2】



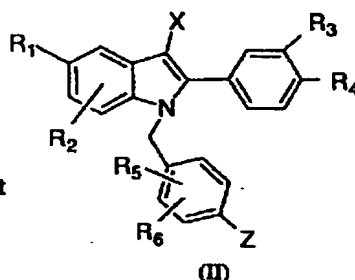
（ここで、Yは、置換または無置換のアミノ基、ヘテロ環または二環系）から選択される］で示される化合物またはその医薬上許容される塩、およびそれを有効成分とする医薬組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 構造式：



または



〔式中、 R_1 は、H、OHまたはその C_1-C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、あるいはハロゲンから選択され； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 は、独立して、H、OHまたはその C_1-C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、ハロゲン、シアノ、 C_1-C_6 アルキル、あるいはトリフルオロメチルから選択され（ただし、 R_1 がHのとき、 R_2 はOHではない）； n は2または3； X は、H、 C_1-C_6 アルキル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、ハロゲンから選択され； Z は、

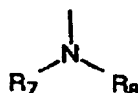
【化2】



から選択され； Y は、

a) 部分：

【化3】



〔式中、 R_7 および R_8 は、独立して、H、 C_1-C_6 アルキル、フェニルからなる群から選択されるか、あるいは $-(CH_2)_p-$ （ここで、 p は2～6の整数）によって組み合わされ、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1-C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1-C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1-C_4 アルキルチオ、 C_1-C_4 アルキルスルフィニル、 C_1-C_4 アルキルスルホニル、ヒドロキシ（ C_1-C_4 ）アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CN$ 、 $-CONH(C_1-C_4)$ アルキル、 $-NH_2$ 、 C_1-C_4 アルキルアミノ、ジ（ C_1-C_4 ）アルキルアミノ、 $-NHSO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $-NHCO(C_1-C_4)$ アルキル、および $-NO_2$ からなる群から選択される3個までの置換基で置換されていてもよい環を形成する〕；

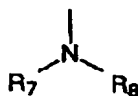
b) $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(C_1-C_4)$ アルキル、 $-N=$ 、および $-S(O)_m-$ （ここで、 m は0～2の整数）からなる群から選択される2個までのヘテロ原子を含有し、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1-C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1-C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1-C_4 アシルオキシ、 C_1-C_4 アルキルチオ、 C_1-C_4 アルキルスルフィニル、 C_1

$-C_4$ アルキルスルホニル、ヒドロキシ（ C_1-C_4 ）アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CN$ 、 $-CONHR_1-$ 、 $-NH_2-$ 、（ C_1-C_4 ）アルキルアミノ、ジ（ C_1-C_4 ）アルキルアミノ、 $-NHSO_2R_1-$ 、 $-NHCO R_1-$ 、 $-NO_2-$ 、およびフェニル（所望により1～3個の（ C_1-C_4 ）アルキル基で置換されていてもよい）からなる群から独立して選択される1～3個の置換基で置換されていてもよい5員、6員、または7員の飽和、不飽和または部分不飽和のヘテロ環；

c) フェニル環に縮合した5員または6員のヘテロ環であって、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(C_1-C_4)$ アルキル、および $-S(O)_m-$ （ここで、 m は0～2の整数）からなる群から選択される2個までのヘテロ原子を含有し、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1-C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1-C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1-C_4 アシルオキシ、 C_1-C_4 アルキルチオ、 C_1-C_4 アルキルスルフィニル、 C_1-C_4 アルキルスルホニル、ヒドロキシ（ C_1-C_4 ）アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CN$ 、 $-CONHR_1-$ 、 $-NH_2-$ 、（ C_1-C_4 ）アルキルアミノ、ジ（ C_1-C_4 ）アルキルアミノ、 $-NHSO_2R_1-$ 、 $-NHCO R_1-$ 、 $-NO_2-$ 、およびフェニル（所望により1～3個の（ C_1-C_4 ）アルキル基で置換されていてもよい）からなる群から独立して選択される1～3個の置換基で置換されていてもよい5員または6員のヘテロ環からなる二環式の環系；から選択される〕で示される化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項2】 R_1 が、H、OHまたはその C_1-C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、ハロゲンから選択され； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 が、独立して、H、OHまたはその C_1-C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、ハロゲン、シアノ、 C_1-C_6 アルキル、またはトリフルオロメチルから選択され（ただし、 R_1 がHのとき、 R_2 はOHではない）； X が、H、 C_1-C_6 アルキル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、ハロゲンから選択され； Y が、部分：

【化4】



R₇およびR₈が、独立して、H、C₁-C₆アルキルからなる群から選択されるか、あるいは-(CH₂)_p-（ここで、pは2〜6の整数）によって組み合わせられ、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、C₁-C₄アルキル、トリハロメチル、C₁-C₄アルコキシ、トリハロメトキシ、C₁-C₄アルキルチオ、C₁-C₄アルキルスルフィニル、C₁-C₄アルキルスルホニル、ヒドロキシ（C₁-C₄）アルキル、-CO₂H、-CN、-CONH（C₁-C₄）アルキル、-NH₂、C₁-C₄アルキルアミノ、ジ（C₁-C₄）アルキルアミノ、-NHSO₂（C₁-C₄）アルキル、-NHCO（C₁-C₄）アルキル、および-NO₂からなる群から選択される3個までの置換基で置換されていてよい環を形成する、

請求項1記載の化合物。

【請求項3】 R₇およびR₈が-(CH₂)_p-（ここで、pは2〜6の整数）として共に鎖状に連結されて、所望によりC₁-C₃アルキル、トリフルオロメチル、ハロゲン、水素、フェニル、ニトロ、または-CNからなる群から選択される1〜3個の置換基で置換されていてよい環を形成する請求項2記載の化合物。

【請求項4】 5-ベンジルオキシ-2-（4-フルオロフェニル）-3-メチル-1H-インドールである請求項1記載の化合物。

【請求項5】 5-ベンジルオキシ-2-（4-ベンジルオキシフェニル）-3-メチル-1-イルメチル-（4-フェニルプロミド）-インドールである請求項1記載の化合物。

【請求項6】 5-ベンジルオキシ-2-（4-フルオロフェニル）-3-メチル-1-イルメチル-（4-フェニルプロミド）-インドールである請求項1記載の化合物。

【請求項7】 2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-1-イルメチル-（4-フェニルプロミド）-インドール-5-オールである請求項1記載の化合物。

【請求項8】 (E)-N,N-ジエチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項9】 1 (E)-N-tert-ブチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項10】 (E)-ピロリジノ-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-

-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項11】 (E)-N,N-ジメチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項12】 (E)-N,N-ジブチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項13】 (E)-N-ブチル、N'-メチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項14】 (E)-モルホリノ-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項15】 (E)-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項16】 (E)-N、メチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項17】 (E)-N,N-ジブチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項18】 (E)-N-ブチル、N'-メチル-3-（4-〔5-ヒドロキシ-2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-インドール-1-イルメチル〕-フェニル）-アクリルアミドである請求項1記載の化合物。

【請求項19】 2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-1-〔4-（3-N,N-ジメチル-1-イル-アロパ-1-イニル）-ベンジル〕-1H-インドール-5-オールである請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項20】 2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-1-〔4-（3-ピペリジン-1-イル-アロパ-1-イニル）-ベンジル〕-1H-インドール-5-オールである請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項21】 2-（4-ヒドロキシフェニル）-3-メチル-1-〔4-（3-ピロリジン-1-イル-

プロパー-1-イニル)-ベンジル]-1H-インドール-5-オールである請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩。

【請求項22】 哺乳動物における骨損失を治療または予防するための医薬組成物であって、請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩と医薬上許容される担体または賦形剤とからなることを特徴とする医薬組成物。

【請求項23】 哺乳動物におけるエストロゲン欠乏に起因または関連する疾患状態または症候群を治療または予防するための医薬組成物であって、請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩と医薬上許容される担体または賦形剤とからなることを特徴とする医薬組成物。

【請求項24】 哺乳動物における心血管系疾患を治療または予防するための医薬組成物であって、請求項1記載の化合物またはその医薬上許容される塩と医薬上許容される担体または賦形剤とからなることを特徴とする医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、エストロゲン様薬剤として有用な新規化合物の3-[4-(2-フェニル-インドール-1-イルメチル)-フェニル]-アクリルアミド類および2-フェニル-1-[4-(アミノ-1-イル-アルカ-1-イニル)-ベンジル]-1H-インドール-5-オール類、ならびに、これらの化合物を利用した医薬組成物および治療法に関する。

【0002】

【従来の技術】閉経後の女性における骨損失を予防するためにホルモン置換療法を用いることは、先例によって支持されている。通常のプロトコルでは、天然源から単離されたエストロン、エストリオール、エチニルエストラジオールまたは複合エストロゲンを含有する製剤（ワイス-アイエルスト（Wyeth-Ayerst）製のプレマリン（Premarin））を用いて、エストロゲンを補給することが必要である。患者によっては、無競合エストロゲン（プロゲステンと組み合わせて与えられていないエストロゲン）が子宮組織に及ぼす増殖効果によって、治療が禁忌される場合もある。この増殖は、子宮内膜症および／または子宮内膜癌の危険性が増大することと関連している。乳房組織に対する無競合エストロゲンの効果は、ほとんど明らかになっていないが、多少とも重要である。子宮および乳房における増殖効果を最小限に抑えながら骨節約効果を維持することができるエストロゲン薬の必要性は明白である。数種の非ステロイド性抗エストロゲン薬は、卵巣摘除ラットモデルだけでなくヒト臨床試験においても、骨量を維持することが示されている。例えば、タモキシフェンは、乳癌の治療に有用な一時的緩和剤である。それは、ヒトにおいて、エストロゲン作

動薬に類似の効果を骨に及ぼすことが示されている。しかし、それはまた、子宮における部分作動薬であり、これが多少とも重要であることの原因である。ベンゾチオフェン系の抗エストロゲン薬であるラロキシフェン（raloxifene）は、骨を節約する能力は維持しながら、タモキシフェンより低い程度で、卵巣摘除ラットにおける子宮成長を刺激することが示されている。組織選択性エストロゲンに関する適当な総説は、エストロゲン類似体の組織選択的な作用（Tissue-Selective Actions of Estrogen Analogs）、ボーン（Bone）、第17巻、第4号、1995年10月、181S-190Sである。

【0003】インドール類をエストロゲン拮抗薬として用いることは、フォン・アンゲラー（Von Angerer）、ケミカル・アブストラクト（Chemical Abstracts）、第99巻、第7号（1983年）、要約第53886u号によって報告されている。また、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー（J. Med. Chem.）、1990年、33巻、第2635-2640頁；ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー（J. Med. Chem.）、1987年、30巻、第131-136頁を参照されたい。また、独国特許出願第DE 3821148 A1 89 1228号および第WO A96 03375号を参照されたい。さらに、第WO A93 23374号（大塚製薬工場）を参照されたい。フォン・アンゲラー（Von Angerer）の研究は、インドール窒素に連結し、次いで塩基性アミン（またはアミド）に連結するか、あるいは、塩基性アミンを有しないベンジル基に連結した脂肪族鎖に限定されている。大塚製薬工場の上記特許出願は、R₃（式Iに示されている）が-SR（ここで、Rはアルキル）として定義されること以外は、本発明と同様の化合物からなる。さらに、その特許には、クレームおよび実施例のいずれにも、本発明で与えられるものと同じ構造を有するインドール窒素から伸長する鎖が存在しない。関連特許第WO A 93 10741号は、5-ヒドロキシインドール類を記載している。第WO A95 17383号（カール・バイオ・アー・ベー（Kar Bio AB））は、脂肪族鎖の化合物を記載している。

【0004】第WO A95 17383号（カール・バイオ・アクチボラゲット（Kar Bio AB））は、長い直鎖を有するインドール系の抗エストロゲン薬を記載している。別の関連特許第WO A93 10741号は、広範囲の側鎖を有する5-ヒドロキシインドール類を記載している。第WO 93/23374号（大塚製薬）は、下記の式（I）および（II）でR₃と呼ばれる構造がチオアルキルとして定義されていること以外は、本発明のものと類似した構造上の類似点を有する化合物を記載しているが、この文献は本発明によって提供されるものと同じ構造を有するインドール窒素から伸長する鎖を有する化合物を開示していない。

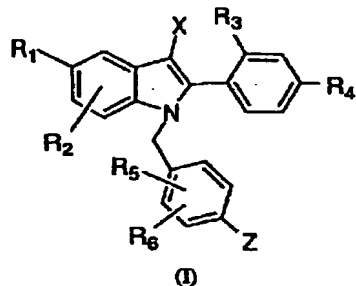
【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、エストロゲン様薬剤として有用な新規化合物、ならびに、こ

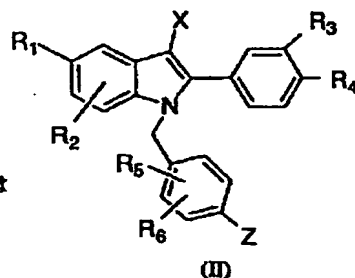
これらの化合物を利用した医薬組成物および治療法を提供することにある。

【課題を解決するための手段および発明の実施の形態】

【0006】式(I)および(II)に示されるタイプの一般構造を有する化合物は、エストロゲン欠乏に関連する疾患の治療に有用なエストロゲン作動薬/拮抗薬である。本発明の化合物は、エストロゲン受容体への強い結合を示す。また、これらの化合物は、固有のエストロゲン性をほとんど有しない抗エストロゲン薬であることが



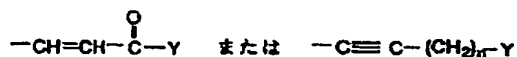
または



【0009】【式中、 R_1 は、H、OHまたはその C_1 – C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、あるいはハロゲンから選択され； R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、および R_6 は、独立して、H、OHまたはその C_1 – C_4 エステルもしくはアルキルエーテル、ハロゲン、シアノ、 C_1 – C_6 アルキル、あるいはトリフルオロメチルから選択され（ただし、 R_1 がHのとき、 R_2 はOHではない）； n は2または3； X は、H、 C_1 – C_6 アルキル、シアノ、ニトロ、トリフルオロメチル、ハロゲンから選択され； Z は、

【0010】

【化6】

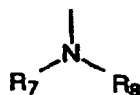


【0011】から選択され； Y は、

a) 部分：

【0012】

【化7】



【0013】【式中、 R_7 および R_8 は、独立して、H、 C_1 – C_6 アルキル、フェニルからなる群から選択されるか、あるいは $-(\text{CH}_2)_p-$ （ここで、 p は2～6の整数）によって組み合わされ、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1 – C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1 – C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1 – C_4 アルキルチオ、 C_1 – C_4 アルキルスルフィニル、 C_1 – C_4 アルキルスルホニル、ヒドロキシ(C_1 – C_4)アルキル、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4)$ アルキル、 $-\text{NH}_2$ 、 C_1 – C_4 アルキルアミノ、ジ(C_1 – C_4)アルキルアミノ、 $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4)$ アルキル、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4)$ アルキル、およびフェニル（所望により1～3個の(C_1 – C_4)アルキル基で置換されていてもよい）からなる群から独立して選択される1～3個の置換基で置換されていてもよい5員、6員、または7員の飽和、不飽和または部分不飽和のヘテロ環；

示されている。3日卵巣摘除ラットモデルにおいて、式(I)で示される化合物は、単独で投与された場合には子宮への刺激をほとんど示さないにもかかわらず、17 β -エストラジオールの効果を拮抗することができる。

【0007】下記の式(I)および(II)で示される化合物およびその医薬上許容される塩を包含する：

【0008】

【化5】

$\text{NHC}(\text{O})(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4)$ アルキル、および $-\text{NO}_2$ からなる群から選択される3個までの置換基で置換されていてもよい環を形成する]；

b) $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4\text{アルキル})-$ 、 $-\text{N}=\text{}$ 、および $-\text{S}(\text{O})_m-$ （ここで、 m は0～2の整数）からなる群から選択される2個までのヘテロ原子を含有し、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1 – C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1 – C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1 – C_4 アシルオキシ、 C_1 – C_4 アルキルチオ、 C_1 – C_4 アルキルスルフィニル、 C_1 – C_4 アルキルスルホニル、ヒドロキシ(C_1 – C_4)アルキル、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CONHR}_1-$ 、 $-\text{NH}_2-$ 、(C_1 – C_4)アルキルアミノ、ジ(C_1 – C_4)アルキルアミノ、 $-\text{NHSO}_2\text{R}_1-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}_1-$ 、 $-\text{NO}_2-$ 、およびフェニル（所望により1～3個の(C_1 – C_4)アルキル基で置換されていてもよい）からなる群から独立して選択される1～3個の置換基で置換されていてもよい5員、6員、または7員の飽和、不飽和または部分不飽和のヘテロ環；

c) フェニル環に縮合した5員または6員のヘテロ環であって、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1\text{–}\text{C}_4\text{アルキル})-$ 、および $-\text{S}(\text{O})_m-$ （ここで、 m は0～2の整数）からなる群から選択される2個までのヘテロ原子を含有し、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、 C_1 – C_4 アルキル、トリハロメチル、 C_1 – C_4 アルコキシ、トリハロメトキシ、 C_1 – C_4 アシルオキシ、 C_1 – C_4 アルキルチオ、 C_1 – C_4 アルキルスルフィニル、 C_1 – C_4 アルキルスルホニル、ヒドロキシ(C_1 – C_4)アルキル、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{CONHR}_1-$ 、 $-\text{NH}_2-$ 、(C_1 – C_4)アルキルアミノ、ジ(C_1 – C_4)アルキルアミノ、 $-\text{NHSO}_2\text{R}_1-$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}_1-$ 、 $-\text{NO}_2-$ 、およびフェニル（所望により1～3

個の(C₁-C₄)アルキル基で置換されていてもよい)からなる群から独立して選択される1~3個の置換基で置換されていてもよい5員または6員のヘテロ環からなる二環式の環系;から選択される]。

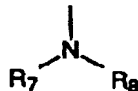
【0014】上記の鎖状に連結されたR₇およびR₈によって形成される環としては、アジリジン環、アゼチジン環、ピロリジン環、ピペリジン環、またはヘキサメチレンアミン環が挙げられる。

【0015】R₇およびR₈が-(CH₂)_p-として共に連結されている場合、このように形成される環は、所望により、C₁-C₃アルキル、トリフルオロメチル、ハロゲン、水素、フェニル、ニトロ、-CNからなる群から選択される1~3個の置換基で置換されていてもよい。

【0016】本発明の最も好ましい化合物は、上記の構造式(I)または(II) [式中、R₁はOH; R₂-R₆は上記と同意義; Xは、Cl、NO₂、CN、CF₃、またはCH₃からなる群から選択され; および、Yは、部分:

【0017】

【化8】



【0018】R₇およびR₈が-(CH₂)_p- (ここで、pは4~6の整数)として共に鎖状に連結されて、所望により、水素、ヒドロキシル、ハロ、C₁-C₄アルキル、トリハロメチル、C₁-C₄アルコキシ、トリハロメトキシ、C₁-C₄アルキルチオ、C₁-C₄アルキルスルフィニル、ヒドロキシ(C₁-C₄)アルキル、-CO₂H、-CN、-CONH(C₁-C₄)アルキル、-NH₂、(C₁-C₄)アルキルアミノ、ジ(C₁-C₄)アルキルアミノ、-NHSO₂(C₁-C₄)、-NHCO(C₁-C₄)アルキル、および-NO₂からなる群から選択される3個までの置換基で置換されていてもよい環を形成する]で示される化合物またはその医薬上許容される塩である。

【0019】本発明は、無機酸または有機酸のいずれかとの付加反応によって形成された許容される塩形態を包含する。塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸などの無機酸だけでなく、酢酸、プロピオン酸、クエン酸、マレイン酸、リンゴ酸、酒石酸、フタル酸、コハク酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、カンフルスルホン酸、ベンゼンスルホン酸などの有機酸が有用である。塩基性窒素を有する化合物が多くの様々な酸(プロトン酸および非プロトン酸の両方)と錯体を形成することができることは公知であり、通常、本発明の化合物は酸付加塩の形態で投与することが好ましい。

【0020】本発明の化合物は、部分的なエストロゲン作動薬であり、エストロゲン受容体に対して高い親和性

を示す。しかし、多くのエストロゲン薬とは異なり、これらの化合物は、子宮の湿重量の増加を引き起こさない。これらの化合物は、子宮において抗エストロゲン性であり、子宮組織におけるエストロゲン作動薬の栄養効果を完全に拮抗することができる。これらの化合物は、エストロゲン欠乏に起因または関連する哺乳動物の疾患状態または症候群を治療または予防するのに有用である。

【0021】本発明の化合物は、コレステロールを低下させ、骨損失を予防することによって、エストロゲン作動薬と同様に挙動する能力を有する。それゆえ、これらの化合物は、骨粗鬆症、前立腺肥大症、不妊症、乳癌、子宮内膜癌、心血管系疾患、避妊、アルツハイマー病および黒色腫を含む多くの疾患を治療するのに有用である。さらに、これらの化合物は、閉経後の女性における、または、エストロゲン補給が有益であるような他のエストロゲン欠乏状態におけるホルモン置換療法に用いることができる。

【0022】本発明の化合物は、骨損失の治療方法に用いてもよい。骨損失は、個体における新しい骨組織の形成と古い組織の吸収との不均衡から生じ、骨の正味の損失に至る。このような骨の減少は、ある範囲の個体、特に閉経後の女性、子宮摘除を受けた女性、持続型コルチコステロイド療法を受けているまたは受けた女性、生殖器發育不全を起こしている女性、およびクッシング症候群に罹患している女性に発生する。骨置換の特別な必要性は、骨折を起こしたり、骨構造に欠陥を有する個体や、骨に関係する外科手術および/または補綴の移植を受けた個体にこれらの化合物を用いることに向けることもできる。上記の問題点に加えて、これらの化合物は、骨粗鬆症、パジェット病、骨軟化症、骨石灰脱失症、子宮内膜癌、多発性骨髄腫などの骨組織に対して有害な効果を及ぼす他の形態の癌の治療に用いることができる。ここに記載される疾患を治療する方法は、このような治療を必要とする個体に医薬上有効量の1種またはそれ以上の本発明の化合物またはその医薬上許容される塩を投与することからなる。また、本発明は、1種またはそれ以上の本発明の化合物、および/またはその医薬上許容される塩を、1種またはそれ以上の医薬上許容される担体、賦形剤などと共に利用する医薬組成物をも包含する。

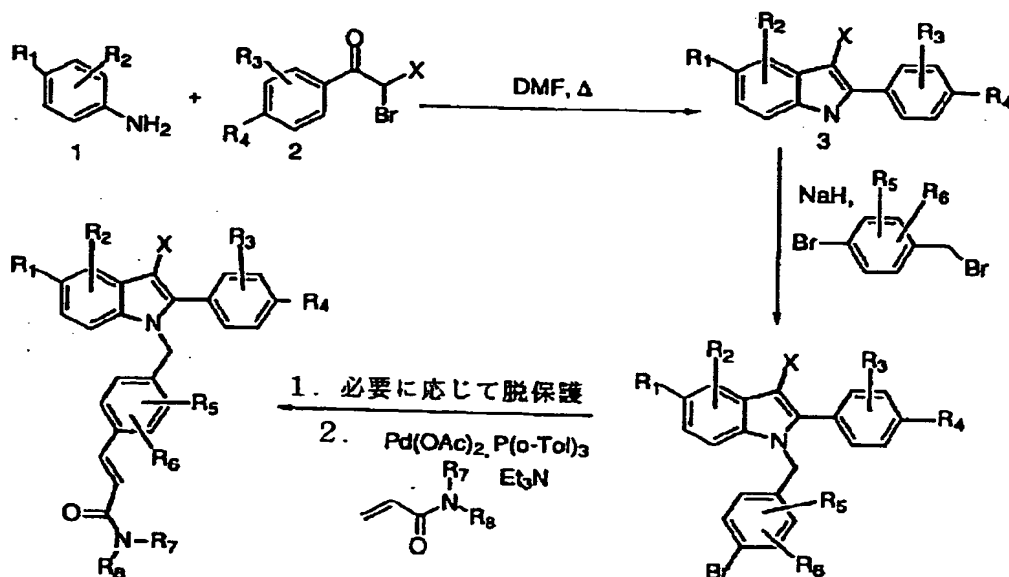
【0023】これら化合物の用量、投与計画および投与方法は、疾患および治療中の個体に応じて変化し、関与する医師の判定に委ねられるものである。1種またはそれ以上の本発明の化合物の投与は、低い投与量から開始して、所望の効果が達成されるまで増大させるのが好ましい。

【0024】これらの化合物の有効な投与は、約0.1 mg/日~約1,000 mg/日の投与量で与えればよい。好ましくは、投与は、単一量で、あるいは、2また

はそれ以上の分割量で、約50mg/日～約600mg/日である。このような投与量は、活性化合物を受容体の血流に向かわせるのに有用な方法で、例えば、経口的、非経口的（静脈内、腹腔内および皮下注射を含む）、および経皮的に投与すればよい。本発明の目的では、経皮投与は、身体表面、ならびに、上皮および粘膜組織を含む身体通過の内層を介して行われるすべての投与を包含する。このような投与は、本発明の化合物またはその医薬上許容される塩を、ローション剤、クリーム剤、フォーム剤、貼布剤、懸濁剤、液剤、および坐剤（直腸用および陰用）の形態で用いて、実施すればよい。

【0025】本発明の活性化合物を含有する経口製剤としては、錠剤、カプセル剤、パッカ剤、トローチ剤、ロゼンジ剤および内服液、懸濁剤または液剤を含む、従来から用いられている経口形態のものが挙げられる。カプセル剤は、活性化合物の混合物を、不活性な充填剤および/または希釈剤、例えば、医薬上許容されるデンプン（例えば、コーンスターチ、馬鈴薯デンプン、タピオカデンプン）、白糖、人工甘味料、セルロース粉末（例えば、結晶性セルロース、微結晶セルロース）、小麦粉、ゼラチン、ガム質などと共に含有する。有用な錠剤

スキーム 1



【0028】スキーム1における最初のインドール合成は、DMFなどの適当な高沸点溶媒中で、適当に置換されたアニリン（1）を適当に置換された α -ブromoフェニルプロプリオフェノン（2）と加熱することによって達成される。次いで、この生成物は、4-ブromoベンジルプロミドを用いてアルキル化して、置換されたインドール（3）を得る。この時、フェノール（存在すれば）

は、従来の圧縮法、湿式造粒法または乾式造粒法によって製造すればよいが、医薬上許容される希釈剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、懸濁剤または安定剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム、微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アルギン酸、アラビアゴム、キサンタンガム、クエン酸ナトリウム、複合ケイ酸塩、炭酸カルシウム、グリシン、デキストリン、ショ糖、ソルビトール、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、乳糖、カオリン、マンニトール、塩化ナトリウム、タルク、乾燥デンプンおよび粉砂糖などを利用してもよい。経口製剤は、活性化合物の吸収を変化させるために、標準的な遅延または時間放出製剤を利用してもよい。坐剤は、カカオバター（坐剤の融点を変化させるために、必要に応じてロウを用いて）およびグリセリンなど伝統的な材料から製造すればよい。様々な分子量のポリエチレングリコールなどの水溶性の坐剤用基剤を用いてもよい。

【0026】本発明の化合物は、一般的な意味で、下記のスキーム1および2に従って合成することができる。

【0027】

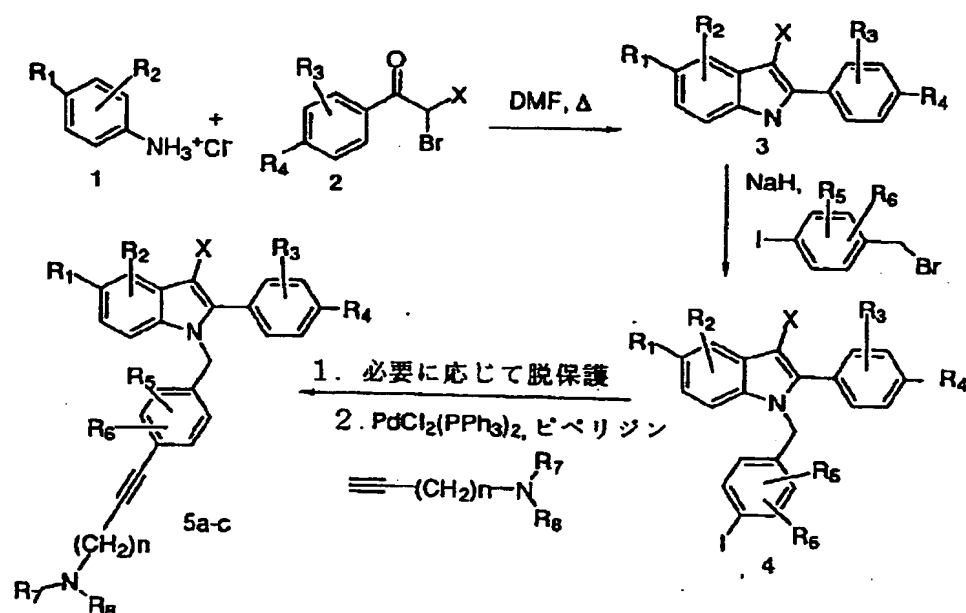
【化9】

の脱保護を行う。通常、フェノールは、ベンジルエーテルとして保護され、TMSIで都合よく開裂させることができる。アクリルアミドは、純粋な Et_3N または $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_3\text{CN}$ 中で、ヘック（Heck）反応条件を用いてカップリングさせる。

【0029】

【化10】

スキーム 2



【0030】スキーム2における最初のインドール合成は、DMFなどの適当な高沸点溶媒中で、適当に置換されたアニリン(1)を適当に置換されたα-プロモフェニルアルキルフェノン(2)と加熱することによって達成される。次いで、この生成物は、4-ヨードベンジルブロミドを用いてアルキル化して、置換されたインドール(3)を得る。この時、フェノール(存在すれば)の脱保護を行う。通常、フェノールは、ベンジルエーテルとして保護され、TMSIで都合よく開裂させることができる。次いで、プロパルギルアミンをヨウ化フェニルにカップリングさせることができる。プロパルギルアミンは、典型的には、適当なアミンで置換することによって、臭化アルキニルまたはトシル化アルキニルから調製される。置換反応は、プロパルギルアミンを単離することなく、その場で行われる。3位がアルキル以外の基で置換された化合物は、まず、3位が-Hで置換されたインドールを調製することによって調製すればよい。次いで、このインドールは、求電子的にハロゲン化、ホルミル化などを行って、他の3-置換化合物を得ることができる。

【0031】反応に用いる溶媒としては、アルドリッチ(Aldrich)製の無水シュア・シール(Sure Seal™)を、さらに精製することなく用いた。すべての試薬は、典型的には、アルドリッチ(Aldrich)製であり、さらに精製することなく用いた。すべての反応は、窒素雰囲気下で実施した。クロマトグラフィーは、230~400メッシュのシリカゲル(メルク(Merck)製グレード60、アルドリッチ・ケミカル・カンパニー(Aldrich Chemical Company))を用いて実施した。薄層クロマトグラフィーは、イー・エム・サイエンス(EM Science)製の

のシリカゲル60 F254プレートをを用いて実施した。¹H NMRスペクトルは、ブルーカー(Bruker)製の装置AM-400を用いて、DMSO中で得、化学シフトはppm単位で報告した。融点は、トーマスフーパー(Thomas-Hoover)製の装置を用いて測定したが、未補正である。IRスペクトルは、パーキン・エルマー(Perkin-Elmer)製の回折格子またはパーキン・エルマー(Perkin-Elmer)製の分光光度計784を用いて、記録した。質量スペクトルは、クラトス(Kratos)製の質量分光計MS 50またはフィニガン(Finnigan)製の質量分光計8230を用いて、記録した。元素分析は、パーキン・エルマー(Perkin-Elmer)製の元素分析装置2400を用いて、実施した。分析値は、理論値の0.4%以内である。

【0032】

【実施例】本発明を以下の実施例によってさらに詳しく説明するが、これらの実施例は本発明を限定することを意図したものではない。

【0033】実施例1

5-ベンジルオキシ-2-(4-ベンジルオキシフェニル)-3-メチル-1H-インドール
4-ベンジルオキシアニリン(45g、0.23モル)、4'-ベンジルオキシ-2-プロモフェニルプロピオフェノン(21g、0.066モル)、およびDMF(50mL)をフラスコに入れた。この反応物を30分間加熱還流した後、室温に冷却し、次いで、EtOAc(250mL)と1N HCl(水溶液)(100mL)とに分配した。EtOAc層をNaHCO₃(水溶液)および食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。この溶液を濃縮し、残渣をCH₂Cl₂中に取り、ヘキサンを添加して、25gの粗製の固形物を析出させた。こ

の固形物を CH_2Cl_2 に溶解し、シリカゲル上でエバポレートし、 CH_2Cl_2 /ヘキサン(1:5)を用いたクロマトグラフィーに付して、9.2gの黄褐色固形物(33%)を得た:融点 $150\sim 152^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 10.88 (s, 1H), 7.56 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.48 (d, 4H, $J=7.9\text{Hz}$), 7.42-7.29 (m, 6H), 7.21 (d, 1H, $J=7.0\text{Hz}$), 7.13 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.08 (d, 1H, $J=2.2\text{Hz}$), 6.94 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$), 5.16 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 2.33 (s, 3H); IR (KBr) 3470, 2880, 2820, 1620 cm^{-1} ; MS EI m/z 419.

【0034】実施例2

5-ベンジルオキシ-2-(4-フルオロフェニル)-3-メチル-1H-インドール
表題化合物は、(3)と同様に調製した:融点 132°C ; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 11.0 (s, 1H), 7.68-7.64 (m, 2H), 7.49-7.47 (m, 2H), 7.41-7.31 (m, 5H), 7.23 (d, 1H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.10 (d, 1H, $J=2.4\text{Hz}$), 6.82 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$), 5.11 (s, 2H), 2.34 (s, 3H); MS EI m/z 331; CHN計算値($\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{FNO}$ として)。

【0035】実施例3

5-ベンジルオキシ-2-(4-ベンジルオキシフェニル)-3-メチル-1-イルメチルー(4-フェニルプロミド)-インドール
DMF (20mL) 中における60%NaH (0.17g、7.1ミリモル)の溶液を 0°C に冷却し、DMF (10mL) 中におけるベンジルオキシインドール1 (2.5g、5.94ミリモル)を滴下することによって処理した。15分後、DMF (10mL) 中における4'-プロモベンジルプロミド (1.63g、6.53ミリモル)を滴下した。この反応物を 0°C で5分間、次いで室温でさらに20分間攪拌した。この反応混合物をエーテル(300mL)で希釈し、 NH_4Cl (2×25mL)、次いで NaHCO_3 (1×25mL)、および食塩水(25mL)で洗浄した。有機抽出物を MgSO_4 で乾燥させ、濃縮した。残渣をTHF/ヘキサンから結晶化させて、2.7g (77%)の化合物2を得た:融点 $144\sim 146^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 7.51-7.36 (m, 8H), 7.34 (d, 4H, $J=8.6\text{Hz}$), 7.20 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.15 (d, 1H, $J=2.4\text{Hz}$), 7.03-7.00 (m, 3H), 6.89 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$), 6.80 (d, 2H, $J=8.6\text{Hz}$), 5.14 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 5.09

(s, 2H), 2.25 (s, 3H); IR (KBr) 3400, 3020, 1600 cm^{-1} ; MS EI m/z 587.

【0036】実施例4

5-ベンジルオキシ-2-(4-フルオロフェニル)-3-メチル-1-イルメチルー(4-フェニルプロミド)-インドール
表題化合物は、化合物5と同様にして調製した。融点 $139\sim 139.5^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 7.49-7.46 (m, 2H), 7.41-7.37 (m, 6H), 7.33-7.27 (m, 4H), 7.24 (d, 1H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.16 (d, 1H, $J=2.2\text{Hz}$), 6.84 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$), 6.73 (d, 1H, $J=8.6\text{Hz}$), 5.2 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 2.15 (s, 3H); IR (KBr) 2920, 1630 cm^{-1} ; MS EI m/z (499/501, Br存在); CHN計算値($\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{BrFNO}$ として)。

【0037】実施例5

2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-1-イルメチルー(4-フェニルプロミド)-インドール-5-オール
 CH_2Cl_2 (10mL) 中の化合物5 (0.5g、0.85ミリモル)からなる溶液を、室温で、3.5当量のTMSI (0.47mL、3.0ミリモル)を滴下することによって処理した。2、3時間後に反応が停止するので、さらに2.2当量のTMSIを添加し、この反応物を5時間加熱還流した。この反応物を 0°C に冷却し、メタノールをゆっくり添加して、反応をクエンチした。この反応物をエーテル(25mL)で希釈し、 NaHCO_3 (25mL)、10% Na_2SO_3 (25mL)、および食塩水で洗浄した。エーテル層を MgSO_4 で乾燥させ、シリカゲル上で濃縮した。EtOAc/ヘキサン(1:4~1:1)を用いたクロマトグラフィーによって、0.25gの化合物3を得た(71%):融点 $83\sim 86^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) フェノールの2H、ブロード(>10), s 7.35 (d, 2H, $J=9.0\text{Hz}$), 7.15 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$), 7.01 (dd, 1H, $J=2.4, 0.4\text{Hz}$), 6.86 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$), 6.80 (d, 1H, $J=8.6\text{Hz}$), 6.72 (dd, 1H, $J=8.6, 2.4\text{Hz}$), 5.10 (s, 2H), 4.88 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 2.21 (s, 3H); MS EI m/z 407/409はBrを含む; IR 3390, 2900, 1600 cm^{-1} ; CHN計算値($\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{BrNO}_2+0.25\text{EtOAc}$ として)。

【0038】実施例6

2-(4-フルオロフェニル)-3-メチル-1-イルメチルー(4-フェニルプロミド)-インドール-5-オール

表題化合物は、化合物7と同様にして調製し、発泡物として単離した。¹H NMR (DMSO) 8.79 (s, 1H), 7.39-7.34 (m, 4H), 7.32-7.30 (m, 3H), 7.11 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.85 (d, 1H, J=2.2 Hz), 6.74 (d, 1H, J=2.4 Hz), 6.63 (dd, 1H, J=8.6, 2.2 Hz), 5.16 (s, 2H), 2.11 (s, 3H); IR (KBr) 3400, 2900, 1630 cm⁻¹; MS e I m/z 409/411はBrを含む。

【0039】インドールアクリルアミドに対する一般的な手順

Et₃N中における実施例3の溶液をトリ-O-トリルホスフィン(10モル%)で処理し、アクリルアミド(1.25当量)をN₂で十分にバージし、Pd(OAc)₂(2.5モル%)を添加する。この反応物を、TLC分析によって反応が完結するまで、密封管中、100~110℃で加熱する。粗製の反応生成物を濃縮沈殿させ、直接結晶化させるか、あるいはシリカゲル上でのクロマトグラフィーに付す。

【0040】実施例7

(E)-N,N-ジエチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチルインドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点160~165℃; ¹H NMR 9.67 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, J=8.1 Hz), 7.37 (d, 1H, J=15.4 Hz), 7.17 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.06 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.97 (d, 2H, J=15.4 Hz), 6.86-6.82 (m, 5H), 6.58 (dd, 1H, J=8.6, 2.2 Hz), 5.19 (br s, 2H), 3.47-3.42 (m, 2H), 3.34-3.30 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.10 (t, 3H, J=7.0 Hz), 1.03 (t, 3H, J=7.0 Hz); IR (KBr) 3300, 2950, 1660, 1580 cm⁻¹; MS (e I) m/z 454; CHN計算値 (C₂₉H₃₀N₂O₃+0.15CH₂Cl₂+0.30H₂Oとして)。

【0041】実施例8

1 (E)-N-tert-ブチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチルインドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点168~170℃; ¹H NMR 9.66 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.34 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.24 (d, 1H, J=15.8 Hz), 7.15 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.05 (d, 1H, J=8.6 Hz), 6.85-6.82 (m, 5H), 6.59-6.56

(m, 1H), 6.55 (d, 1H, J=16.0 Hz), 5.18 (s, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.28 (s, 9H); IR (KBr) 3350, 2950, 1660, 1620 cm⁻¹; MS (e I) m/z 454; CHN計算値 (C₂₉H₃₀N₂O₃+0.4H₂Oとして)。

【0042】実施例9

(E)-ヒロリジノ-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチルインドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド
融点170~175℃; ¹H NMR 9.67 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.49 (d, 2H, J=8.1 Hz), 7.35 (d, 1H, J=15.4 Hz), 7.16 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.05 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.88-6.81 (m, 6H), 6.57 (dd, 1H, J=8.6, 2.2 Hz), 5.19 (br s, 2H), 3.56 (t, 2H, J=6.6 Hz), 3.35 (m, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.87 (p, 2H, J=7.0 Hz), 1.77 (p, 2H, J=7.0 Hz); MS m/z 452; CHN計算値 (C₂₉H₂₈N₂O₃+0.1MeOH+1.3H₂Oとして)。

【0043】実施例10

(E)-N,N-ジメチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチルインドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点278~280℃; ¹H NMR (DMSO) 9.65 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, J=8.1 Hz), 7.33 (d, 1H, J=15.4 Hz), 7.15 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.07 (d, 1H, J=15.6 Hz), 7.05 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.85-6.80 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, J=8.6, 2.4 Hz), 5.19 (s, 2H), 3.09 (s, 2H), 2.88 (s, 3H), 2.11 (s, 3H); MS (e I) m/z 426; IR (KBr) 3410, 3220, 1650, 1580 cm⁻¹; CHN計算値 (C₂₇H₂₆N₂O₃+0.5H₂Oとして)。

【0044】実施例11

(E)-N,N-ジブチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチルインドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点126~128℃; ¹H NMR (DMSO) 9.65 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.48 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.36 (d, 1H, J=15.2 Hz), 7.16 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.05 (d, 1H, J=8.6 Hz), 6.97 (d, 1H, J=15.2 Hz), 6.86-6.81 (m, 5

H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4$ Hz), 5.19 (s, 2H), 3.39 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.29 (t, 2H, $J=7.2$ Hz), 2.11 (s, 3H), 1.48-1.43 (m, 4H), 1.29-1.20 (m, 4H); 0.87 (t, 6H, $J=7.2$ Hz); MS m/z 510; IR (KBr) 3300, 2920, 2900, 2850, 1650, 1625, 1580 cm^{-1} ; CHN計算値 ($\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_3$ として)。

【0045】実施例12

(E)-N-ブチル, N'-メチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点240~242°C; ^1H NMR (DMSO) 9.66 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, $J=8.1$ Hz), 7.38-7.32 (m, 1H), 7.16 (d, 2H, $J=6.8$ Hz), 7.06-7.01 (m, 2H), 6.85-6.81 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.6, 2.2$ Hz), 5.19 (s, 2H), 3.44, 3.33 (2t, 2H, $J=7.2$ Hz), 3.06, 2.87 (2s, 3H), 2.11 (s, 3H), 1.45 (m, 2H), 1.24 (p, 2H, $J=7.5$ Hz), 0.87 (t, 3H, $J=7.2$ Hz); MS m/z 468; IR (KBr) 3300, 1660, 1590 cm^{-1} ; CHN計算値 ($\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3+0.2\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0046】実施例13

(E)-モルホリノ-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点165~167°C; ^1H NMR (DMSO) 9.66 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.52 (d, 2H, $J=8.1$ Hz), 7.39 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 7.15 (d, 2H, $J=8.6$ Hz), 7.12 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 7.06 (d, 1H, $J=8.6$ Hz), 6.85-6.81 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.6, 2.2$ Hz), 5.19 (s, 2H), 3.65-3.64 (m, 2H), 3.59-3.53 (m, 6H), 2.11 (s, 3H); IR (KBr) 3330, 1650, 1620, 1580 cm^{-1} ; MS (FAB) m/z 469 ($M+H^+$); CHN計算値 ($\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4+0.5\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0047】実施例14

(E)-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点161~163°C; ^1H NMR (DMSO) 9.6

5 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.37 (d, 2H, $J=8.35$ Hz), 7.30 (d, 1H, $J=15.8$ Hz), 7.14 (d, 2H, $J=8.35$ Hz), 7.04 (d, 2H, $J=8.6$ Hz), 6.85-6.81 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4$ Hz), 6.48 (d, 1H, $J=15.8$ Hz), 5.18 (s, 2H), 2.10 (s, 3H); IR (KBr) 3320, 3180, 1660, 1580 cm^{-1} ; MS (FAB) m/z 399 ($M+H^+$); CHN計算値 ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3+1.3\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0048】実施例15

(E)-N, N'-メチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点155~158°C; ^1H NMR (DMSO) 9.64 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.99 (q, 1H, $J=4.4$ Hz), 7.37 (d, 2H, $J=8.1$ Hz), 7.30 (d, 1H, $J=15.8$ Hz), 7.14 (d, 2H, $J=8.6$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J=8.6$ Hz), 6.85-6.81 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.6, 2.4$ Hz), 6.48 (d, 1H, $J=15.8$ Hz), 5.18 (s, 2H), 2.66 (d, 3H, $J=4.6$ Hz), 2.10 (s, 3H); IR (KBr) 3400, 1660, 1620 cm^{-1} ; MS m/z 412; CHN計算値 ($\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3+0.4\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0049】実施例16

(E)-N, N'-ジブチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-フルオロフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-アクリルアミド

融点180°C; ^1H NMR (DMSO) 8.77 (s, 1H), 7.48 (d, 2H, $J=8.4$ Hz), 7.41-7.38 (m, 3H), 7.38-7.29 (m, 3H), 7.13 (d, 1H, $J=8.8$ Hz), 6.97 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 6.85 (d, 1H, $J=2.4$ Hz), 6.80 (d, 2H, $J=8.1$ Hz), 5.2 (s, 2H), 3.40-3.36 (m, 2H), 3.30-3.27 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.50-1.40 (m, 4H), 1.29-1.21 (m, 4H), 0.86 (t, 6H, $J=7.2$ Hz); IR (KBr) 3180, 2950, 2900, 2850, 1650, 1590 cm^{-1} ; MS m/z 512; CHN計算値 ($\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_2$)。

【0050】実施例17

(E)-N-ブチル, N'-メチル-3-{4-[5-ヒドロキシ-2-(4-フルオロフェニル)-3-メチル-インドール-1-イルメチル]-フェニル}-ア

クリルアミド

融点153~153.5℃; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 8.77 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, $J=8.1\text{ Hz}$), 7.42-7.36 (m, 2H), 7.35-7.28 (m, 3H), 7.13 (d, 1H, $J=8.8\text{ Hz}$), 7.03 (dd, 1H, $J=15.4, 2.6\text{ Hz}$), 6.84 (d, 1H, $J=2.4\text{ Hz}$), 6.80 (d, 2H, $J=8.1\text{ Hz}$), 6.62 (dd, 1H, $J=8.8\text{ Hz}, 2.4\text{ Hz}$), 5.21 (s, 2H), 3.44, 3.41 (2t, 2H, $J=7.0\text{ Hz}$), 3.06, 2.87 (2s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.49-1.42 (m, 2H), 1.27-1.20 (m, 2H), 0.86 (t, 3H); IR (KBr) 3300, 2950, 2860, 1645, 1580 cm^{-1} ; MS eI m/z 470; CHN計算値 ($\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{FN}_2\text{O}_2$ として)。

【0051】実施例18

5-ベンジルオキシ-2-(4-ベンジルオキシ-フェニル)-3-メチル-1H-インドール
4-ベンジルオキシアニリン (45g, 0.23モル)、4'-ベンジルオキシ-2-ブロモフェニルプロピオフェノン (21g, 0.066モル)、およびDMF (50mL) をフラスコに入れた。この反応物を30分間加熱還流した後、室温に冷却し、次いで、EtOAc (250mL) と1N HCl (水溶液) (100mL) とに分配した。EtOAc層を NaHCO_3 (水溶液) および食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させた。この溶液を濃縮し、残渣を CH_2Cl_2 中に取り、ヘキサンを添加して、25gの粗製の固形物を析出させた。この固形物を CH_2Cl_2 に溶解し、シリカゲル上でエバポレートし、 CH_2Cl_2 /ヘキサン (1:5) を用いたクロマトグラフィーに付して、9.2gの黄褐色固形物 (33%) を得た: 融点=150~152℃; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 10.88 (s, 1H), 7.56 (d, 2H, $J=8.8\text{ Hz}$), 7.48 (d, 4H, $J=7.9\text{ Hz}$), 7.42-7.29 (m, 6H), 7.21 (d, 1H, $J=7.0\text{ Hz}$), 7.13 (d, 2H, $J=8.8\text{ Hz}$), 7.08 (d, 1H, $J=2.2\text{ Hz}$), 6.94 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{ Hz}$), 5.16 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 2.33 (s, 3H); IR (KBr) 3470, 2880, 2820, 1620 cm^{-1} ; MS eI m/z 419。

【0052】実施例19

5-ベンジルオキシ-2-(4-ベンジルオキシ-フェニル)-3-メチル-1-イルメチル-(4-フェニルヨージド)-インドール
DMF (25mL) 中における化合物4 (3.0g, 7.4ミリモル) の溶液をNaH (60%分散液, 0.21g, 8.9ミリモル) で処理し、室温で15分間攪拌し

た。4-ヨードブロモベンジルブロミド (2.2g, 7.4ミリモル) を添加し、この反応物1時間攪拌した。この反応混合物を水に注ぎ込み、EtOAcで抽出し、 MgSO_4 で乾燥させ、濃縮した。粗生成物をエーテルと共に摩砕して、2.2gの生成物を白色固形物として得た。融点153~156℃; $^1\text{H NMR}$ (DMSO) 7.54 (d, 2H, $J=8.6\text{ Hz}$), 7.52-7.45 (m, 4H), 7.37-7.29 (m, 6H), 7.27 (d, 2H, $J=8.8\text{ Hz}$), 7.17 (d, 1H, $J=9.0\text{ Hz}$), 7.13 (d, 1H, $J=2.2\text{ Hz}$), 7.10 (d, 2H, $J=8.8\text{ Hz}$), 6.81 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{ Hz}$), 6.60 (d, 2H, $J=8.3\text{ Hz}$), 5.18 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 2.15 (s, 3H); MS eI m/z 635。

【0053】実施例20

2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-1-イルメチル-(4-フェニルヨージド)-インドール-5-オール
 CHCl_3 中における化合物4 (2.2g, 3.5ミリモル) の溶液をヨードトリメチルシラン (1.04mL, 7.0ミリモル) で処理し、この反応物を加熱還流した。2時間後、さらに3当量のヨードトリメチルシランを添加し、この反応物を室温で18時間攪拌した。この反応物を、MeOH (5mL) を添加することによって、クエンチした。有機層を10% Na_2SO_3 水溶液、HCl (1M) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させた。この溶液を濃縮し、シリカゲル上でのクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン (3:7)) に付して、化合物4aを発泡物 (1.2g) として得た。 $^1\text{H NMR}$ 9.65 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.54 (d, 2H, $J=8.3\text{ Hz}$), 7.12 (d, 2H, $J=8.3\text{ Hz}$), 7.02 (d, 1H, $J=8.6\text{ Hz}$), 6.84-6.80 (m, 3H), 6.61 (d, 2H, $J=8.3\text{ Hz}$), 6.57 (dd, 1H, $J=6.4\text{ Hz}$), 5.12 (s, 2H), 2.09 (s, 3H); MS eI m/z 455。

【0054】インドールプロパルギルアミンの調製に対する一般的な手順

実施例21~23の表題化合物は、0℃に冷却したDMF中に10倍モル過剰量の第二アミンを含有する溶液を用いて製造し、プロパルギルブロミド (3当量、トルエン中の80%溶液) で処理した。0℃で1時間後、この反応物を室温で1時間放置した。インドールヨージド (4a, 1当量) を添加した後、 Cu(I)I (0.1当量) および $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (0.035当量) を添加した。次いで、この反応混合物を16~48時間攪拌し、水中に注ぎ込み、EtOAc中に抽出することによって処理した。EtOAc層を濃縮し、EtOAc/ヘキサンを溶離系として用いるシリカゲル上でのクロ

マトグラフィーに付した。

【0055】実施例21

2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-1-[4-(3-N,N-ジメチル-1-イルプロパ-1-イニル)-ベンジル]-1H-インドール-5-オール

融点173~176℃; ^1H NMR (DMSO) 9.64 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.25 (d, 2H, $J=8.1\text{Hz}$), 7.12 (d, 2H, $J=8.3\text{Hz}$), 7.03 (d, 1H, $J=8.6\text{Hz}$), 6.83-6.78 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.8, 2.4\text{Hz}$), 5.17 (s, 2H), 3.39 (s, 2H), 2.19 (s, 6H), 2.10 (s, 3H); IR (KBr) 3390, 1490 cm^{-1} ; MS EI 411 ($\text{M}+\text{H}^+$).

【0056】実施例22

2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-1-[4-(3-ピペリジン-1-イルプロパ-1-イニル)-ベンジル]-1H-インドール-5-オール

融点118~123℃; ^1H NMR (DMSO) 9.65 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.24 (d, 2H, $J=8.1\text{Hz}$), 7.12 (d, 2H, $J=8.6\text{Hz}$), 7.02 (d, 1H, $J=8.6\text{Hz}$), 6.83-6.80 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.6, 2.2\text{Hz}$), 5.17 (s, 2H), 3.39 (s, 2H), 2.41 (m, 4H), 2.10 (s, 3H), 1.48 (p, 4H, $J=5.7\text{Hz}$), 1.36-1.33 (m, 2H); IR (KBr) 3400, 2920, 1620, 1420 cm^{-1} ; MS EI m/z 450; CHN計算値 ($\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2+0.25\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0057】実施例23

2-(4-ヒドロキシフェニル)-3-メチル-1-[4-(3-ピロリジン-1-イルプロパ-1-イニル)-ベンジル]-1H-インドール-5-オール (5c)

融点174~176℃; ^1H NMR (DMSO) 9.64 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 7.23 (d, 2H, $J=8.3\text{Hz}$), 7.11 (d, 2H, $J=8.6\text{Hz}$), 7.02 (d, 1H, $J=8.8\text{Hz}$), 6.84 (m, 5H), 6.57 (dd, 1H, $J=8.6, 2.2\text{Hz}$), 5.17 (s, 2H), 3.53 (s, 2H), 2.53-2.51 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 1.69-1.66 (m, 4H); IR (KBr) 3400, 2920, 2900, 1620 cm^{-1} ; MS EI m/z 436; CHN計算値 ($\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2+0.7\text{H}_2\text{O}$ として)。

【0058】生物学的方法

インビトロでのエストロゲン受容体結合アッセイ

【0059】受容体の調製

エストロゲン受容体を過剰表現するCHO細胞を、DMEM+10%デキストラン被覆活性炭除去ウシ胎児血清 (dextran coated charcoal, stripped fetalbovine serum) を入れた150mm²の皿の中で増殖させた。これらのプレートをPBSで2回、10mM トリス-HCl、pH7.4、1mM EDTAで1回洗浄した。表面をこすることによって細胞を採取した後、細胞懸濁液を氷上に置いた。細胞の破碎は、手持ち式のモーター付き組織破碎機を用いて、10秒間の破碎を2回行った。粗製の調製物を12,000gで20分間遠心した後、100,000gで60分間回転させて、リボソームを含有しない細胞質ゾルを得た。次いで、この細胞質ゾルを凍結し、-80℃で保存した。細胞質ゾルのタンパク濃度は、比較タンパク標準品を用いたBCAアッセイによって評価した。

【0060】結合アッセイの条件

[^3H]-17 β -エストラジオールの全使用量の<2.0%を結合する96穴プレート (ポリスチレン*) を用いて競合分析を実施し、各々のデータポイントを3通りに収集した。100 μg /100 μL の受容体調製物を一定量ずつ各ウェルに入れた。100倍および500倍の競合物を評価する場合には、予備競合において、飽和量の2.5nM [^3H] 17 β -エストラジオール+競合物 (または緩衝液) を50 μL 容量で添加し、0.8nM [^3H] 17 β -エストラジオールのみを用いた。このプレートを室温で2.5時間インキュベートした。このインキュベーション期間の最後に、150 μL の氷冷したデキストラン被覆活性炭 (0.05%の69Kデキストランで被覆した5%活性炭) を各ウェルに添加し、このプレートを直ちに、4℃、99gで5分間遠心した。次いで、200 μL の上澄み溶液をシンチレーションカウンタ用に取り出した。試料を2%または10分のいずれか早い方までカウントした。ポリスチレンは少量の [^3H] 17 β -エストラジオールを吸収するので、利用可能な同位元素の量を定量するために、放射能および細胞質ゾルを有するが活性炭で処理していないウェルを含めた。また、 [^3H] 17 β -エストラジオールの除去不能DPMを評価するために、放射能を有するが細胞質ゾルは有しないウェルを活性炭で処理した。エストラジオール結合量が最少であることが判明しているの、コーニング (Corning) 製の#25880-96 96穴プレートを用いた。

【0061】結果の分析

放射能の1分間あたりの計数値 (CPM) は、各試料のH#を生成させるために1組のクエンチした標準品を用いて、ベックマン (Beckman) 製のシンチレーションカウンタLS 7500によって1分間あたりの壊変値 (DPM) に自動的変換した。100倍または500倍の競合物の存在下におけるエストラジオール結合率 (%) を計算するために、以下の式を適用した:

【0062】

【数1】

エストラジオール結合率 (%)

$$= \frac{\text{DPM(試料)} - \text{DPM(活性炭によって除去不能)}}{\text{DPM(エストラジオール)} - \text{DPM(活性炭によって除去不能)}} \times 100$$

【0063】 IC_{50} 曲線を作成するには、結合率 (%) を化合物に対してプロットする。 IC_{50} は、500 倍の競合物濃度で > 30 % の競合を示す化合物について求める。これらの方法の詳しい説明については、ヒュルム、イー・シー (Hulme, E.C.) 編、1992 年、受容体-リガンド相互作用：実際のアプローチ (Receptor-Ligand Interactions: A Practical Approach)、アイ・アール・エル・プレス (IRL Press)、ニューヨーク (特に第 8 章) を参照されたい。

【0064】イシカワ細胞アルカリホスファターゼアッセイ

細胞の維持および処理

イシカワ細胞は、フェノールレッド + 10 % ウシ胎児血清を含有する DMEM/F12 (50 % : 50 %) 中で維持し、培地には 2 mM グルタマックス (Glutamax)、1 % ペン/ストラップ (Pen/Strap) および 1 mM ビルビン酸ナトリウムを補足した。各実験 (細胞の処理) を開始する 5 日前に、培地をフェノールレッドを含有しない DMEM/F12 + 10 % デキストラン被覆活性炭除去血清に変更した。処理の前日に、0.5 % トリプシン/EDTA を用いて、細胞を採取し、96 穴組織培養プレートに 5×10^4 細胞/ウェルの密度でプレートした。試験化合物は、これらの化合物が抗エストロゲン薬として機能する能力を評価するために、 10^{-6} M (化合物) + 10^{-9} M 17β -エストラジオールに加えて、 10^{-6} 、 10^{-7} および 10^{-8} M で投与した。細胞は、アッセイを行う前に 48 時間処理した。各 96 穴プレート

17β -エストラジオール

17α -エストラジオール

エストリオール

エストロン

【0068】このような方法の説明は、ホリンカ、シー・エフ (Holinka, C.F.)、ハタ、エイチ (Hata, H.)、クラモト、エイチ (Kuramoto, H.) およびグルピデ、イー (Gurpide, E.) (1986 年) 「ヒト内皮癌細胞 (イシカワ系) におけるアルカリホスファターゼ活性に及ぼすステロイドホルモンおよび抗ステロイド薬の効果 (Effects of steroid hormones and antisteroids on alkaline phosphatase activity in human endometrial cancer cells (Ishikawa Line))」、キャンサー・リサーチ (Cancer Research)、46 巻 : 2771-2774 頁によって、ならびに、リトルフィールド、ビー・エイ (Littlefield, B.A.)、グルピデ、イー (Gurpide, E.)、マーキーウィック、エル (Markiewicz, L.)、マッキンリ

は、 17β -エストラジオール対照を含有していた。各投与量における試料数は、 $n=8$ であった。

【0065】48 時間の最後に、培地を吸引し、細胞をリン酸緩衝食塩水 (PBS) で 3 回洗浄する。50 μ L の溶解緩衝液 (0.1 M トリス-HCl、pH 9.8、0.2 % トリトン X-100) を各ウェルに添加する。プレートを -80°C で最低 15 分間放置する。プレートを 37°C で解凍した後、4 mM p-ニトロフェニルホスフェート (pNPP) を含有する 150 μ L の 0.1 M トリス-HCl、pH 9.8 を各ウェルに添加する (最終濃度、3 mM pNPP)。

【0066】キネティック・カルク・アプリケーション (KineticCalc Application) プログラム (バイオテック・インスツルメンツ・インク (Bio-Tek Instrument, Inc.)、ウィヌースキー (Winooski)、バーモント州) を用いて、吸光度および勾配の計算を行った。結果は、速度論的な反応曲線 (30 分間にわたって吸光度を読み取るのに対して 5 分毎に光学密度を読み取る) の線形部分について平均化した酵素反応の速度 (勾配) に関する平均値 \pm 標準偏差として表す。化合物についての結果は、1 nM 17β -エストラジオールに関連する応答率 (%) として要約する。

【0067】アルカリホスファターゼ法によって、様々な化合物をエストロゲン活性についてアッセイし、対応する ED_{50} 値 (95 % C.I.) を計算した。以下に示す 4 つのものを対照標準として用いた。

0.03 nM

1.42 nM

0.13 nM

0.36 nM

ー、ビー (McKinley, B.) およびホッホベルグ、アール・ビー (Hochberg, R.B.) (1990) 「イシカワ細胞における刺激アルカリホスファターゼに基づく単で高感度なマイクロタイタープレートによるエストロゲンバイオアッセイ ; D5 副腎ステロイド薬のエストロゲン作用 (A simple and sensitive microtiter plate estrogen bioassay based on stimulation alkaline phosphatase in Ishikawa cells ; Estrogen action of D5 adrenal steroids)」、エンドクリノロジー (Endocrinology)、6 巻 : 2757-2762 頁によって与えられている。

【0069】2X VIT ERE トランスフェクションアッセイ

細胞の維持および処理

ヒトエストロゲン受容体を安定にトランスフェクトされているチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)は、DMEM+10%ウシ胎児血清(FBS)中で維持した。処理の48時間前に、増殖培地を、フェノールレッドを欠くDMEM+10%デキストラン被覆活性炭除去FBS(処理培地)で置き換えた。細胞を、各ウェルあたり200 μ Lの培地を含有する96穴プレートに5000細胞/ウェルの密度でプレートした。

【0070】リン酸カルシウムトランスフェクションリポーターDNA(ルシフェラーゼ遺伝子を駆動する最小チミジンキナーゼプロモーターの前方にビテロゲニンEREの2つのタンデムコピーを含有するプロメガ(Promega)プラスミドpGL2)を、 β -ガラクトシダーゼ発現プラスミドpCH110(ファルマシア(Pharmacia)製)およびキャリアーDNA(pTZ18U)と以下の割合で混合した。

10 μ gのリポーターDNA

5 μ gのpCH110DNA

5 μ gのpTZ18U

20 μ gのDNA/1mLのトランスフェクション溶液

【0071】DNA(20 μ g)を500 μ Lの250mM無菌CaCl₂に溶解し、500 μ Lの2 \times HeBS(0.28M NaCl、50mM HEPES、1.5mM Na₂HPO₄、pH7.05)に滴下し、室温で20分間インキュベートした。この混合物20 μ Lを各ウェルの細胞に添加し、細胞上で16時間維持した。このインキュベーションの最後に、沈殿物を除去し、細胞を培地で洗浄し、新鮮な処理培地を取り替え、細胞を賦形剤、1nM 17 β -エストラジオール、1 μ M化合物または1 μ M化合物+1nM 17 β -エストラジオールで処理した(エストロゲン拮抗作用に関する試験)。各処理条件は、ルシフェラーゼアッセイを行う前に24時間インキュベートした8つのウェル(n=8)について実施した。

【0072】ルシフェラーゼアッセイ

化合物に24時間曝露した後、培地を除去し、各ウェルを、Mg⁺⁺およびCa⁺⁺を欠く125 μ LのPBSで2回洗浄した。PBSを除去した後、25 μ Lのプロメガ(Promega)溶解緩衝液を各ウェルに添加し、室温で15分間放置した後、-80℃で15分間および37℃で15分間放置した。20 μ Lの溶解産物はルシフェラーゼ活性を評価するための不透明な96穴プレートに移し、残りの溶解産物(5 μ L)は(トランスフェクションを規格化する) β -ガラクトシダーゼ活性の評価に用いた。ルシフェラン基質(プロメガ(Promega)製)を、ルミノメーターによって自動的に、各ウェルに100 μ Lずつ添加し、生じた光(相対光単位)を添加の10秒後に読み取る。

【0073】 β -ガラクトシダーゼアッセイ

残り5 μ Lの溶解産物に、45 μ LのPBSを添加し

た。次いで、50 μ Lのプロメガ(Promega) β -ガラクトシダーゼ2 \times アッセイ緩衝液を添加し、十分に混合し、37℃で1時間インキュベートした。標準曲線(0.1~1.5ミリ単位で3通り)を示すプレートを各実験用に用意した。プレートは、モレキュラー・デバイス(Molecular Devices)製の分光光度プレート読み取り機によって、410nmで分析した。不明の物に対する光学密度は、標準曲線から数学的に外挿することによって、活性のミリ単位に変換した。

【0074】結果の分析

ルシフェラーゼのデータは、10秒間の測定中に積算された相対光単位(RLU)として得られ、バックグラウンドのRLUを減ずるJMP(エス・エイ・エス・インク(SAS Inc))ファイルに自動的に転送した。 β -ガラクトシダーゼ値は、このファイルに自動的に導入され、これらの値は、データを規格化するためにRLUに分割した。平均値および標準偏差は、各実験について、n=8から決定した。化合物の活性は、各プレートについて、17 β -エストラジオールと比較した。17 β -エストラジオールと比べた場合の活性百分率(%)は、 $\% = ((\text{エストラジオール-対照}) / (\text{化合物の値})) \times 100$ という式を用いて計算した。これらの手法は、ツケルマン、エム・ティー(Tzukerman, M.T.)、エッツィ、エイ(Esty, A.)、サンチソーメーレ、ディー(Santiso-Mere, D.)、ダニエリアン、ピー(Danielian, P.)、パーカー、エム・ジー(Parker, M.G.)、シュテイン、アール・ビー(Stein, R.B.)、パイク、ジェイ・ダブリュー(Pike, J.W.)およびマクドネル、ディー・ピー(McDonnell, D.P.) (1994年)「ヒトエストロゲン受容体のトランス活性化能は、細胞およびプロモーターの両面によって決定され、2つの機能的に区別される分子内領域によって媒介された(Human estrogen receptor transactivational capacity was determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions)」(モレキュラー・エンドクリノロジー(Molecular Endocrinology)、8巻:21-30頁を参照されたい)に記載されている。

【0075】ラット子宮栄養/抗子宮栄養バイオアッセイ

上記化合物のエストロゲン性および抗エストロゲン性の性質は、未成熟ラット子宮栄養アッセイ(4日)(エル・ジェイ・ブラック(L.J. Black)およびアール・エル・グッド(R.L. Goode)、ライフ・サイエンス(Life Sciences)、26巻、1453頁(1980年)に記載)によって決定した。未成熟なスプラウグドーリー(Sprague-Dawley)ラット(雌、18日齢)を6つのグループにわけて試験した。これらの動物は、毎日、10 μ gの化合物、100 μ gの化合物、抗エストロゲン性を調べるために(100 μ gの化合物+1 μ gの17 β -エストラ

ジオール)、および1 μ gの17 β -エストラジオールを、注射液の賦形剤である50%DMSO/50%生理食塩水と共に、腹腔内注射することによって処理した。4日目に、これらの動物をCO₂で窒息させることによって犠牲に供し、それらの子宮を取り出し、過剰の脂質を除去し、液体を拭って、湿重量を測定した。一方の角状部分の小さい切片を組織検査に付し、残りは、補体成分3の遺伝子発現を評価するために、全RNAを単離するのに用いた。

【0076】生物学的な結果を以下の表1~4に示す。

【0077】

【表1】

エストロゲン受容体親和性(RBAとして表示)

17 β -エストラジオール=100)	
化合物	RBA
ラロキシフェン	200
タモキシフェン	1.8
実施例10	20
実施例7	42
実施例8	40
実施例9	40
実施例12	114
実施例11	80
実施例13	27
実施例14	32
実施例15	53
実施例21	53
実施例22	23

感染ルシフェラーゼアッセイ

化合物	活性化率	活性化率 (1 nM 17 β -エストラジオール)
17 β -エストラジオール	100%	N/A
エストリオール	38%	N/A
タモキシフェン	0%	10%
ラロキシフェン	0%	0%
実施例10	1%	2%
実施例7	4%	8%
実施例8	6%	78%
実施例9	6%	8%
実施例12	13%	24%
実施例11	8%	12%
実施例13	8%	17%
実施例14	19%	57%
実施例15	15%	31%
実施例21	34%	34%
実施例22	17%	19%

【0079】

【0078】

【表2】

【表3】

イシカワアルカリホスファターゼアッセイ

化合物	活性化率	活性化率 (化合物 + 1 nM 17β-エストラジオール)
17β-エストラジオール	100%	N/A
タモキシフェン	0%	45%
ラロキシフェン	5%	5%
実施例10	6%	19%
実施例7	1%	9%
実施例8	10%	22%
実施例9	3%	11%
実施例12	7%	16%
実施例11	6%	11%
実施例13	7%	9%
実施例14	2%	14%
実施例15	0%	5%
実施例21	34%	34%
実施例22	27%	23%

【0080】

【表4】

3日卵巣摘除ラットモデル

化合物	10μG	100μG	
タモキシフェン	69.6 mg	71.4 mg	
ラロキシフェン	47.5 mg	43.2 mg	
対照	= 42.7 mg	1 μG 17β-エストラジオール=98.2	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例7	47.8 mg	64.8 mg	75.4
対照	= 20.2 mg	1 μG 17β-エストラジオール=80.2 mg	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例12	36.9 mg	49.5 mg	63.1
対照	= 31.4 mg	1 μG 17β-エストラジオール=89.0 mg	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例11	39.3 mg	59.8 mg	81.0 mg
対照	= 24.5 mg	1 μG 17β-エストラジオール=90.8 mg	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例14	32.5 mg	56.4 mg	79.8 mg
実施例15	40.4 mg	56.3 mg	69.3 mg
対照	= 29.1 mg	1 μG 17β-エストラジオール=95.5 mg	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例21	56.0 mg	84.0 mg	77.6 mg
対照	= 32.1 mg	1 μG 17β-エストラジオール=90.2 mg	

化合物	10μG	100μG	100μG + 1μG 17β-エストラジオール
実施例22	55.6 mg	71.3 mg	66.8 mg
対照	= 21.7 mg	1 μG 17β-エストラジオール=82.8 mg	

【0081】

【発明の効果】本発明によれば、エストロゲン様薬剤と

して有用な新規化合物が得られる。これらの化合物は、エストロゲン受容体に対して高い親和性を示すが、子宮組織にほとんど刺激を与えない部分的なエストロゲン作用薬であると共に、子宮組織におけるエストロゲン作用

薬の栄養効果を完全に拮抗することができるエストロゲン拮抗薬でもある。それゆえ、本発明の化合物は、エストロゲン欠乏に起因または関連する疾患状態または症候群を治療するのに有用である。

フロントページの続き

(72)発明者 マイケル・デイビッド・コリーニ
アメリカ合衆国19018ペンシルベニア州ク
リフトン・ハイツ、デイビス・アベニュー
251番

(72)発明者 バッハ・ディン・トラン
アメリカ合衆国19063ペンシルベニア州メ
ディア、ヒレンデイル・ロード500番